

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

Julia Somavilla Lignon

**NOVOS REGISTROS DE CERATOPOGONIDAE (DIPTERA) NA REGIÃO DE
SANTA MARIA, RS, BRASIL**

Santa Maria, RS, Brasil

2022

Julia Somavilla Lignon

**NOVOS REGISTROS DE CERATOPOGONIDAE (DIPTERA) NA REGIÃO DE
SANTA MARIA, RS, BRASIL**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, área de concentração em Sanidade e Reprodução Animal da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para a obtenção do título de **Mestre em Medicina Veterinária**.

Orientadora: Prof. Dr^a. Silvia Gonzalez Monteiro

Santa Maria, RS, Brasil
2022

Lignon, Julia
NOVOS REGISTROS DE CERATOPOGONIDAE (DIPTERA) NA
REGIÃO DE SANTA MARIA, RS, BRASIL / Julia Lignon.- 2022.
53 p.; 30 cm

Orientadora: Silvia Gonzalez Monteiro
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós
Graduação em Medicina Veterinária, RS, 2022

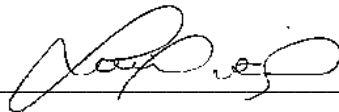
1. Maruins 2. Entomologia 3. Taxonomia 4.
Epidemiologia 5. Parasitologia Veterinária I. Gonzalez
Monteiro, Silvia II. Título.

Julia Somavilla Lignon

**NOVOS REGISTROS DE CERATOPOGONIDAE (DIPTERA) NA REGIÃO DE
SANTA MARIA, RS, BRASIL**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, área de concentração em Sanidade e Reprodução Animal da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para a obtenção do título de **Mestre em Medicina Veterinária**.

Aprovado em 18 de fevereiro de 2022:

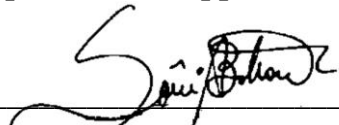


Silvia Gonzalez Monteiro, Dr^a. (UFSM)

(Presidente/Orientadora)



Felipe Geraldo Pappen, Dr. (UFPeI)



Sônia de Ávila Botton, Dr^a. (UFSM)

Santa Maria, RS, Brasil
2022

AGRADECIMENTOS

Ao meu pai Lauro e meu irmão Vitor, por serem meu ponto de equilíbrio muitas vezes. À minha mãe, *in memoriam*, por me ensinar tudo que eu sou hoje, transmitindo-me valores e princípios que fundamentaram meu caráter e por sempre priorizar a educação. À minha família, meu alicerce, pelo incentivo, apoio e compreensão, já que por muitas vezes me privei da companhia deles. Sei que não mediram esforços para que eu pudesse realizar meu sonho de criança.

À minha orientadora, Prof^a. Silvia Gonzalez Monteiro pela oportunidade de realizar o mestrado, por confiar no meu trabalho e por toda orientação contribuindo para o meu crescimento profissional.

A todos os colaboradores dessa pesquisa que proporcionaram um ambiente de trabalho agradável para a realização da mesma. Em especial, ao Dr. Felipe Pessoa, pesquisador titular em Saúde Pública da Fundação do Instituto Oswaldo Cruz em Manaus – Amazônia, pela disponibilidade no auxílio da identificação das espécies.

Ao Prof. Dr. Diego Moscarelli Pinto, da Universidade Federal de Pelotas, por aceitar mais esse desafio e sempre confiar no meu trabalho. Por toda colaboração intelectual, por toda orientação profissional e pessoal, pela amizade construída e pela parceria em todos esses anos de trabalho.

Aos meus colegas de laboratório, estagiários e professores do Laboratório de Parasitologia Veterinária (LPAVET) pela convivência e experiências compartilhadas.

À Universidade Federal de Santa Maria e ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária pela oportunidade de realizar esse sonho em um programa de excelência.

Agradeço a CAPES e ao CNPq pela bolsa de estudos que me permitiu concretizar o mestrado proporcionando as condições necessárias para a realização dessa pesquisa.

Muito obrigada!

“Você nunca sabe que resultados virão da sua ação, mas se você
nunca fizer nada, não existirão resultados.”

(Mahatma Gandhi)

RESUMO

NOVOS REGISTROS DE CERATOPOGONIDAE (DIPTERA) NA REGIÃO DE SANTA MARIA, RS, BRASIL

AUTORA: Julia Somavilla Lignon

ORIENTADORA: Silvia Gonzalez Monteiro

Os dípteros Ceratopogonidae são pequenos insetos conhecidos por diferentes designações como, “maruins” ou “mosquitos pólvora”. Várias espécies possuem importância médica e veterinária, causando grande incômodo devido a picada dolorosa que pode causar reações alérgicas bem como, transmitir protozoários, nematódeos filarídeos e vírus. Apesar da importância, os estudos com estes dípteros a nível mundial ainda são considerados limitados e identificar possíveis espécies vetoras de doenças é de grande importância epidemiológica. O objetivo deste trabalho foi fazer um levantamento das espécies de Ceratopogonídeos que ocorrem em uma área rural de cidade de Santa Maria, Rio Grande do Sul, e verificar a frequência da ocorrência de adultos em até um ano de captura. Para isso, os maruins adultos foram coletados semanalmente (três noites por semana) com uma armadilha de luz por sucção Captor®, de março de 2020 a março de 2021, instalada a cerca de 1,5 m acima do nível do solo no peridomicílio de uma propriedade rural. As coletas foram realizadas entre 18h e 6h e os espécimes foram separados de outros insetos e em morfoespécies de acordo com o padrão da asa, para identificação taxonômica a nível da espécie. Um total de 16.054 espécimes (71,55% fêmeas a 28,44% machos) de Ceratopogonidae foram capturados e identificados, compreendendo treze espécies, sendo *Culicoides insignis* e *Culicoides venezuelensis*, as espécies com maior número de indivíduos coletados. Pode-se concluir com os dados apresentados que várias espécies de Ceratopogonidae, incluindo sete novos registros, ocorrem em uma propriedade rural de Santa Maria, RS. Os maruins tiveram frequência variável e se apresentaram o ano todo no local de estudo, sendo o maior número na estação quente, independente do sexo. As espécies mais frequentemente coletadas foram *C. insignis* e *C. venezuelensis*. O presente trabalho ressalta a escassez de pesquisas e informações referentes aos Ceratopogonidae no estado do Rio Grande do Sul, e apesar do estudo ter sido realizado em um único local e com apenas uma armadilha, obteve-se grande diversidade de espécies, sugerindo que a real diversidade no estado pode ser ainda maior. Além disso, este é o primeiro estudo usando a armadilha de luz de sucção Captor®, a qual, pode ser considerada uma alternativa eficiente, de fácil manuseio e transporte e mais barata quando comparada à armadilha luminosa do tipo CDC, frequentemente usada em pesquisas entomológicas.

Palavras-chave: Captor®. Ceratopogonídeos. Dípteros. Insetos.

ABSTRACT

NEW RECORDS OF CERATOPOGONIDAE (DIPTERA) IN THE REGION OF SANTA MARIA, RS, BRAZIL

AUTHOR: Julia Somavilla Lignon

ADVISOR: Silvia Gonzalez Monteiro

The Ceratopogonidae dipterans are small insects known by different names, but mainly as "maruins" or "mosquitos pólvora". Several species have medical and veterinary importance, causing great discomfort due to painful bites that can cause allergic reactions as well as being responsible for the transmission of various protozoa, filarial nematodes and viruses. Despite the knowledge about this importance, studies with these dipterans worldwide are still considered limited. Veterinary ectoparasites cause great losses in animal production, therefore, identifying possible disease vectors is of great epidemiological importance. The objective of this work was to survey the species of Ceratopogonids that occur in Santa Maria, Rio Grande do Sul, and verify the frequency of occurrence of adults within one year of capture. For this purpose, adult maruins were collected weekly (three nights a week) with a Captor® suction light trap, from March 2020 to March 2021, installed about 1.5 m above ground level in the peridomicile of rural property located in Santa Maria, RS. The collections were carried out between 6 p.m. and 6 a.m. and the specimens were separated from other insects and into morphospecies according to the wing pattern, for taxonomic identification at the species level. A total of 16,054 specimens (71.55% female to 28.44% male) of Ceratopogonidae were collected and identified, comprising thirteen species, with *Culicoides insignis* and *Culicoides venezuelensis* being the most abundant species. The data presented show that several species of Ceratopogonidae, including seven new records, occur in a rural property in Santa Maria, RS. It can be concluded from the data presented that several species of Ceratopogonidae, including seven new records, occur in a rural property in Santa Maria, RS. The maruins have variable frequency and occur throughout the year at the study site, with the largest number being in the warm season, regardless of sex. The most frequently collected species were *C. insignis* and *C. venezuelensis*. The present work highlights the lack of research and information regarding Ceratopogonidae in the state of Rio Grande do Sul, and although the study was carried out in a single location and with only one trap, a great diversity of species was obtained, suggesting that the real diversity in the state may be even greater. Furthermore, this is the first study using the Captor® suction light trap, which can be considered an efficient alternative, easy to handle and transport, and cheaper when compared to the CDC-type light trap, often used in entomological research.

Keywords: Captor®. Ceratopogonids. Diptera. Insects.

LISTA DE FIGURAS

REVISÃO DE LITERATURA

- Figura 1** - Diferenciação sexual de *Culicoides* spp. através das antenas. A- Nos machos nota-se longas cerdas plumosas; B- Nas fêmeas, são cobertas por discretas cerdas pilosas. 17
- Figura 2** - Identificação das principais veias em asa de *Culicoides insignis* Lutz, 1913. 18
- Figura 3** - Peças bucais de fêmea de *Culicoides* spp. desenvolvidas e adaptadas para picar e sugar sangue..... 19

ARTIGO

- Figure 1** - Captor® suction light trap. (Image source: Ascend Global - <https://ascendglobal.com/eng/products/insect-light-traps/1>)..... 30
- Figure 2** - Map showing the position of Rio Grande do Sul in Brazil and South America with Santa Maria marking 30
- Figure 3** - Landscape of the peridomicile area on the rural property where insect survey was conducted. A- Presence of production animals in the peridomicile property; B- Presence of domestic animals and lake in the peridomicile property; C- Native vegetation of the property area with a predominance of the Atlantic Forest; D-. Stream located on property. 31
- Figure 4** - Ceratopogonidae species identified. A- *C. insignis*; B- *C. venezuelensis*; C- *C. leopoldoi*; D- *C. limai*; E- *C. pusillus*; F- *C. pseudodiabolicus*; G- *C. impulsilloides*; H- *Monohelea* spp.; I- *Forcypomyia* sp.1; J- *Forcypomyia* sp.2; K- *Forcypomyia* sp.3..... 35
- Figure 5** - Monthly distribution of Ceratopogonids captured in a peridomicile rural area in Santa Maria, RS, Brazil and monthly meteorological data (average temperature and precipitation) for the municipality, from March 2020 to March 2021, according to the National Institute of Meteorology (INMET)..... 36
- Figure 6** - Monthly distribution of females Ceratopogonids captured in a peridomicile rural area in Santa Maria, RS, Brazil and monthly meteorological data (average temperature and precipitation) for the municipality, from March 2020 to March 2021, according to the National Institute of Meteorology (INMET) 36

Figure 7 - Monthly distribution of males Ceratopogonids captured in a peridomicile rural area in Santa Maria, RS, Brazil and monthly meteorological data (average temperature and precipitation) for the municipality, from March 2020 to March 2021, according to the National Institute of Meteorology (INMET) 37

LISTA DE TABELAS

ARTIGO

Table 1 - Ceratopogonidae species captured by Captor® suction light trap, in a peridomicile area in Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brazil.	33
Table 2 - Monthly abundance of Ceratopogonidae species captured by the Captor® suction light trap in a peridomicile area in Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brazil.	34

LISTA DE ABREVIÇÕES E SIGLAS

mm – Milímetro

h – Hora

µm – Micrômetro

a.m. – Antes do meio-dia

p.m. – Após o meio-dia

UFSM – Universidade Federal de Santa Maria

UFPel – Universidade Federal de Pelotas

CAPES - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior

CNPQ - Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

SISBIO - Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade

INMET - Instituto Nacional de Meteorologia

SUMÁRIO

RESUMO	06
ABSTRACT	07
LISTA DE FIGURAS	08
LISTA DE TABELAS	10
LISTA DE ABREVIÇÕES E SIGLAS	11
1 INTRODUÇÃO	13
2 REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1 Ordem Diptera	14
2.2 Família Ceratopogonidae	15
2.3 Gênero <i>Culicoides</i>	16
2.4 Gênero <i>Forcipomyia</i>	21
2.5 Gênero <i>Monohalea</i>	22
3 ARTIGO	23
4 CONCLUSÃO	48
REFERÊNCIAS	49

1 INTRODUÇÃO

Os dípteros da família Ceratopogonidae são pequenos insetos conhecidos por diferentes designações em diversos países. No Brasil, espécies hematófagas recebem os nomes de “maruins”, “mosquitos pólvora” ou “mosquitos do mangue” (FORATTINI et al., 1958).

Várias espécies de ceratopogonídeos possuem importância médica e veterinária (BORKENT e SPINELLI, 2007). As picadas dos ceratopogonídeos hematófagos causam grande incômodo aos humanos e animais, podendo produzir reações como dermatite alérgica, eczema, descamação e cicatrizes na pele (FELIPPE-BAUER e STERNHEIM, 2008). Segundo Ronderos, Greco e Spinelli (2003) as reações alérgicas podem ser por contato ou por inoculação de saliva, já tendo sido reportado que pessoas sem antecedentes alérgicos, após terem sido picadas por *Culicoides* spp., desenvolveram quadros asmáticos típicos. Hipersensibilidade também tem sido registrada em animais domésticos como os bovinos, equinos e ovinos. A hipersensibilidade a *Culicoides* spp. é uma dermatite sazonal, crônica e recorrente em cavalos com uma distribuição global, sendo caracterizada por intenso prurido que resulta em lesões associadas ao auto traumatismo (CASTELLÓN e VERAS, 2015).

Além das picadas dolorosas acompanhadas pela sensação de queimadura, esses dípteros têm papel como vetores biológicos e são responsáveis pela transmissão de vários protozoários, nematódeos filariais e vírus. Entre eles podemos incluir alguns arbovírus como Vírus Oropouche, Vírus da Peste Equina Africana e Vírus da Língua Azul (HOFFMAN et al., 2012), algumas filarias como espécies de *Mansonella* spp. e *Onchocerca* spp., além dos protozoários *Haemoproteus* sp., *Leucocytozoon* sp., e *Hepatozystis* sp. (MELLOR et al., 2000). Recentes estudos também demonstraram a capacidade de protozoários dos gêneros *Leishmania* spp. e *Trypanosoma* spp. se desenvolverem nesses dípteros (SEBLOVA et al., 2012; SLAMA et al., 2014; SVOBODOVÁ et al., 2017; REBÊLO et al., 2016; BERNOTIENÈ et al., 2020).

Apesar do conhecimento acerca dessa importância, os estudos com estes dípteros a nível mundial ainda são considerados limitados. No Brasil, os estudos são ainda mais incipientes. Levantamentos de espécies, especialmente de *Culicoides* spp., têm sido realizados em diferentes estados brasileiros, já no Rio Grande do Sul, os trabalhos são escassos. Alguns autores contribuíram identificando a dermatite alérgica

causada por *C. insignis* em um rebanho de ovinos (CORRÊA et al. 2007). Carrasco et al. (2014) relacionaram as interações entre a flutuação populacional de espécies de *Culicoides* spp. como *C. insignis*, *C. venezuelensis* e *C. caridei* e as variáveis ambientais nas marismas do estuário da Lagoa dos Patos. Além disso, esforços têm sido feitos por Santarém e Felipe-Bauer (2021) anualmente a fim de atualizar as listas de espécies para facilitar o estudo da família Ceratopogonidae.

Os ectoparasitos de interesse veterinário causam grandes perdas na produção animal, seja pela ação espoliadora direta ou pelo incômodo que causam, além do potencial risco de veiculação de patógenos que podem ser introduzidos nos rebanhos (BRITO et al., 2008). Portanto, identificar possíveis vetores de doenças é de grande importância epidemiológica.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Ordem Diptera

Os dípteros apresentam uma grande diversidade em número de espécies, habitats e, conseqüentemente, uma diversidade estrutural e morfológica extensa, sendo difícil fazer uma generalização a respeito da morfologia desses organismos. Entretanto, há características bastante notáveis e que são comuns à maioria desses insetos (BRITO et al., 2008).

São caracterizados por possuírem apenas um par de asas funcionais para voo, e um segundo par é reduzido e modificado em halteres, ou também conhecidos como balancins, que auxiliam no controle de equilíbrio e estabilizam o voo (CARVALHO et al., 2012).

Também possuem um par de grandes olhos compostos na cabeça, que podem apresentar-se próximos, praticamente unidos (holópticos), ou podem estar dispostos de forma bem separada (dicópticos). Outra estrutura típica deste grupo é que as peças bucais formam um aparelho comumente chamado de probóscide, que pode exercer a função sugadora, lambedora ou ainda, ambas (CARVALHO et al., 2012).

Os insetos desta ordem são holometábolos, ou seja, apresentam ciclo de vida com metamorfose completa dividida em quatro estágios: ovo, larva, pupa e adulto (MONTEIRO, 2017).

Segundo Carvalho et al. (2012), historicamente, os dípteros eram classificados em três subordens: Nematocera, Brachycera e Cyclorrhapha. Mais recentemente, duas

subordens vinham sendo reconhecidas: Nematocera e Brachycera. Atualmente, a classificação indicada por Carvalho et al. (2012) segue basicamente a de Yeates et al. (2007), com adendos e alterações feitas por Amorim e Yeates (2006) e Thompson (2008), tendo como objetivo uma melhor compreensão da ordem devido à grande diversidade taxonômica dos grupos. Sendo assim, insetos da família Ceratopogonidae pertencem a Subordem Culicomorpha (CARVALHO et al., 2012).

2.2 Família Ceratopogonidae

Os ceratopogonídeos são caracterizados pelo pequeno tamanho que pode variar de dois a cinco milímetros, com asas cuja largura varia de 0,4-0,7 mm e ficam dobradas sobre o dorso abdominal quando em repouso. São insetos que não possuem ocelos. A antena possui entre seis e 13 flagelômeros, sendo plumosa na maioria dos machos e pilosa nas fêmeas. De forma geral, o tórax é frequentemente pigmentado, a asa possui uma e/ou duas veias radiais que alcançam a margem da asa e duas ramificações medianas que atingem a margem. As pernas anteriores são mais curtas que as posteriores e estão inseridas embaixo das asas. O primeiro tarsômero de todas as pernas é igual ou mais longo do que o segundo (FERREIRA-KEPPLER et al., 2014).

O ciclo de vida dos ceratopogonídeos inclui ovo, quatro estádios larvais, pupa e adultos, e a duração pode durar de três semanas a um ano, variando de acordo com o clima. Estão presentes durante todo o ano em áreas tropicais, indicando que muitas espécies têm diferentes gerações em curtos períodos. O seu ciclo de vida em zona temperada no sul da América do Sul é desconhecido, mas a presença de adultos no final da primavera nesta área indica que muitas espécies entram em estado de diapausa, ou seja, entram em estado de dormência, no último estágio larval (RODRIGUES, 2004; BORKENT e SPINELLI, 2007).

As fases imaturas, como as larvas, possuem formato vermiforme com o corpo contendo a cápsula cefálica bem desenvolvida e pálida. O tórax é dividido em três segmentos e o abdome em nove segmentos. Já as pupas, possuem cefalotórax alargado dorsoventralmente, e abdome com nove segmentos com a extremidade cônica, e um par de órgãos respiratórios bem desenvolvidos com uma série de poros apicais. Os imaturos se abrigam em ambientes aquáticos e semiaquáticos como areia úmida, solos alcalinos, buracos de árvores, cascas de árvores e associados a musgos e algas. Alimentam-se de

detritos e algas, alguns são necrófagas e outros se alimentam de vegetação decomposta e hifas de fungos e oligoquetos (BORKENT, 2014; FERREIRA-KEPPLER et al., 2014).

Os adultos já foram encontrados desde o nível do mar nas regiões costeiras, até em altitudes elevadas, sendo que algumas espécies são encontradas em até 4.000 metros de altitude (BORKENT, 2014).

A família Ceratopogonidae é dividida em quatro subfamílias conhecidas como Leptoconopinae, Forcipomyiinae, Dasyheleinae e Ceratopogoninae, sendo distribuídas em 110 gêneros e 6.224 espécies (BORKENT, 2015) das quais, 520 espécies são conhecidas no Brasil (SANTARÉM e FELIPPE-BAUER, 2021). Com exceção de Dasyheleinae, as demais subfamílias contêm gêneros que possuem espécies hematófagas que se alimentam em animais vertebrados, incluindo o homem. Atualmente, o gênero *Culicoides* Latreille, 1809 é o melhor representado em número de espécies e importância sanitária, possuindo 1.309 espécies distribuídas globalmente. No Brasil, 151 já foram descritas e no estado do Rio Grande do Sul, apenas nove (SANTARÉM e FELIPPE-BAUER, 2021).

2.3 Gênero *Culicoides* Latreille, 1809

Filo: Arthropoda

Classe: Insecta

Ordem: Diptera

Subordem: Culicomorpha

Família: Ceratopogonidae

Gênero: *Culicoides*

O gênero *Culicoides* pertence à subordem Culicomorpha, subfamília Ceratopogoninae e tribo Culicoidini (CARVALHO, 2016).

Os dípteros desse gênero são insetos pequenos, medindo de 1 a 3 mm de comprimento. Os adultos são caracterizados morfologicamente por possuírem a cabeça subsférica com olhos compostos volumosos e reniformes, com uma curta pilosidade entre os omatídeos (BLANTON e WIRTH, 1979; CASTELLÓN e VERAS, 2015). As antenas são formadas por três segmentos: escapo, pedicelo e flagelo com 13 flagelômeros onde é possível observar dimorfismo sexual, assim, nos machos os flagelômeros um a oito têm longas cerdas plumosas (Figura 1 – A), enquanto nas

fêmeas são cobertos por discretas cerdas pilosas (Figura 1 – B) (DOWNES e WIRTH, 1981; CASTELLÓN e VERAS, 2015).

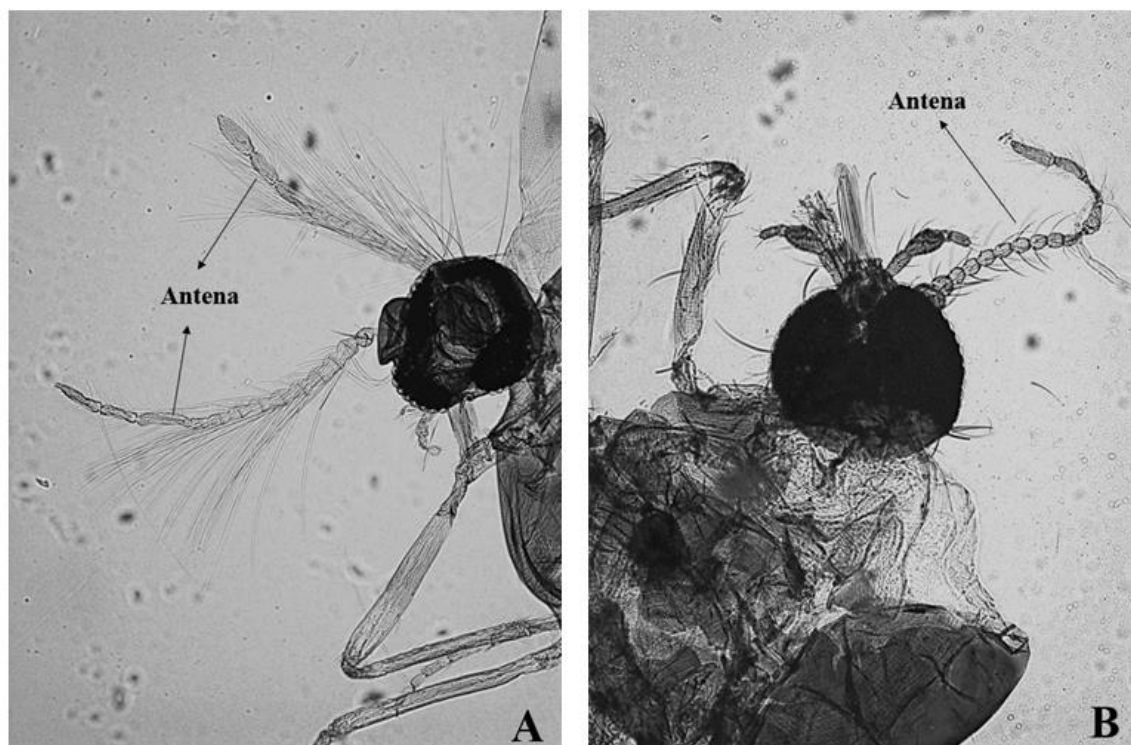


Figura 1. Diferenciação sexual de *Culicoides* spp. através das antenas. A- Nos machos nota-se longas cerdas plumosas; B- Nas fêmeas, nota-se discretas cerdas pilosas.

Culicoides spp. possuem asas, geralmente, com manchas claras e escuras, mas também podem apresentar-se hialinas, com veia M bifurcada em M1 e M2 e uma transversal r-m cruzada (Figura 2). Esse padrão de manchas para o gênero é considerado uma variabilidade interespecífica utilizada como parâmetro morfológico de referência na identificação taxonômica (FELIPPE-BAUER, 2003). Também é observado a presença de micro e macrotríquias mais ou menos abundantes, algumas vezes cobrindo toda a membrana da asa, outras vezes restritas a determinadas zonas, e na minoria dos casos, ausentes (CASTELLÓN e VERAS, 2015). Ainda segundo Castellón e Veras (2015) o desenho de áreas claras e escuras é característico para cada espécie, ou ao menos para cada subgênero ou grupo de espécies, e é de importância na taxonomia do gênero. Em algumas espécies ou grupos, este desenho se encontra pobremente desenvolvido ou carecem de desenho. Nos machos, a asa é mais estreita e fina do que na fêmea e o desenho da asa é menos contrastante.

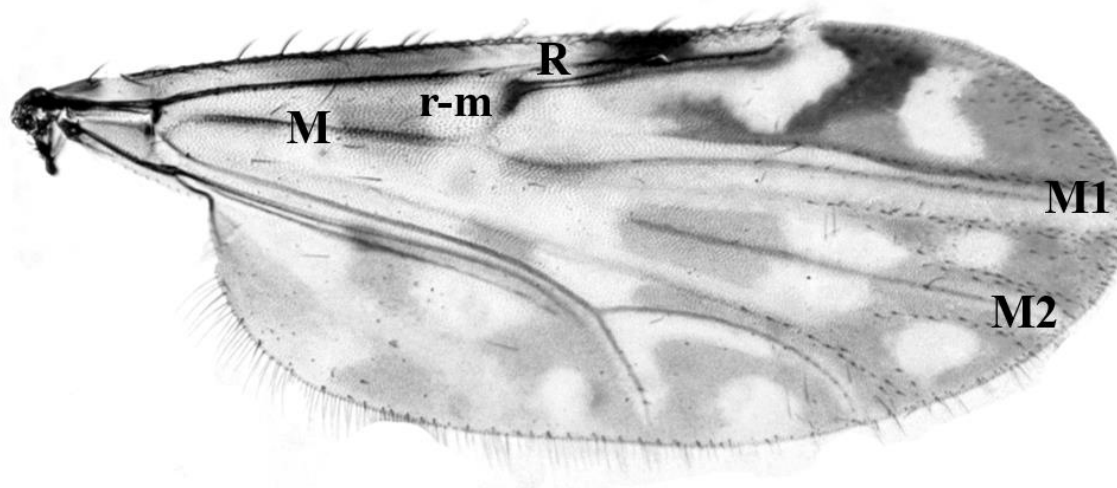


Figura 2. Identificação das principais veias em asa de *Culicoides insignis* Lutz, 1913.

O tórax é moderadamente largo e convexo por cima, arqueado anteriormente e ligeiramente projetado por cima da cabeça (CASTELLÓN e VERAS, 2015).

O abdome nas fêmeas é robusto, ligeiramente fino e possui terminália curta. A maioria das fêmeas possui internamente duas espermatecas bem desenvolvidas e, às vezes, uma terceira vestigial chamada pseudoespermateca. As espermatecas são estruturas fortemente esclerotizadas, arredondadas, ovais ou piriformes, que desempenham a importante função de armazenar os espermatozoides após cópula (MONTEIRO, 2017). Elas se conectam por ductos laterais individuais hialinos, para se unirem e formar o ducto comum e nessa união encontra-se um pequeno anel esclerotizado. O número e a forma das espermatecas funcionais, assim como a presença ou ausência de anel esclerotizado, são importantes caracteres taxonômicos. O abdome do macho é delgado e protuberante que leva a genitália, o edeago, que é o órgão copulador (MELLOR et al., 2000; MULLEN, 2009; RONDEROS e DIAZ, 2015).

Fêmeas e machos se alimentam de néctar e substâncias açucaradas, porém as fêmeas necessitam de sangue para maturação de seus folículos ovarianos (MELLOR et al., 2000). As peças bucais são bem desenvolvidas nas fêmeas adaptadas para picar e sugar sangue e consistem em seis estiletos finos, sub-iguais e dentados distalmente, envolvidos pela probóscide. São eles: um labro-epifaringe na porção superior, um par de mandíbulas fortemente dentadas, um par de maxilas, colocadas lateralmente, e a hipofaringe tubular na posição mediana (Figura 3) (CASTELLÓN e VERAS, 2015). O palpo maxilar possui cinco segmentos. O terceiro é mais alargado, geralmente possuindo o órgão sensorial, que também é chamado fossa sensorial (Figura 3), no qual

a presença ou não, a quantidade, a forma e o tamanho desse órgão são características utilizadas na taxonomia do gênero (WIRTH e BLANTON, 1959). Segundo Blackwell (2004), as sensilas presentes nesse órgão têm função olfativa, auxiliando na detecção do hospedeiro.

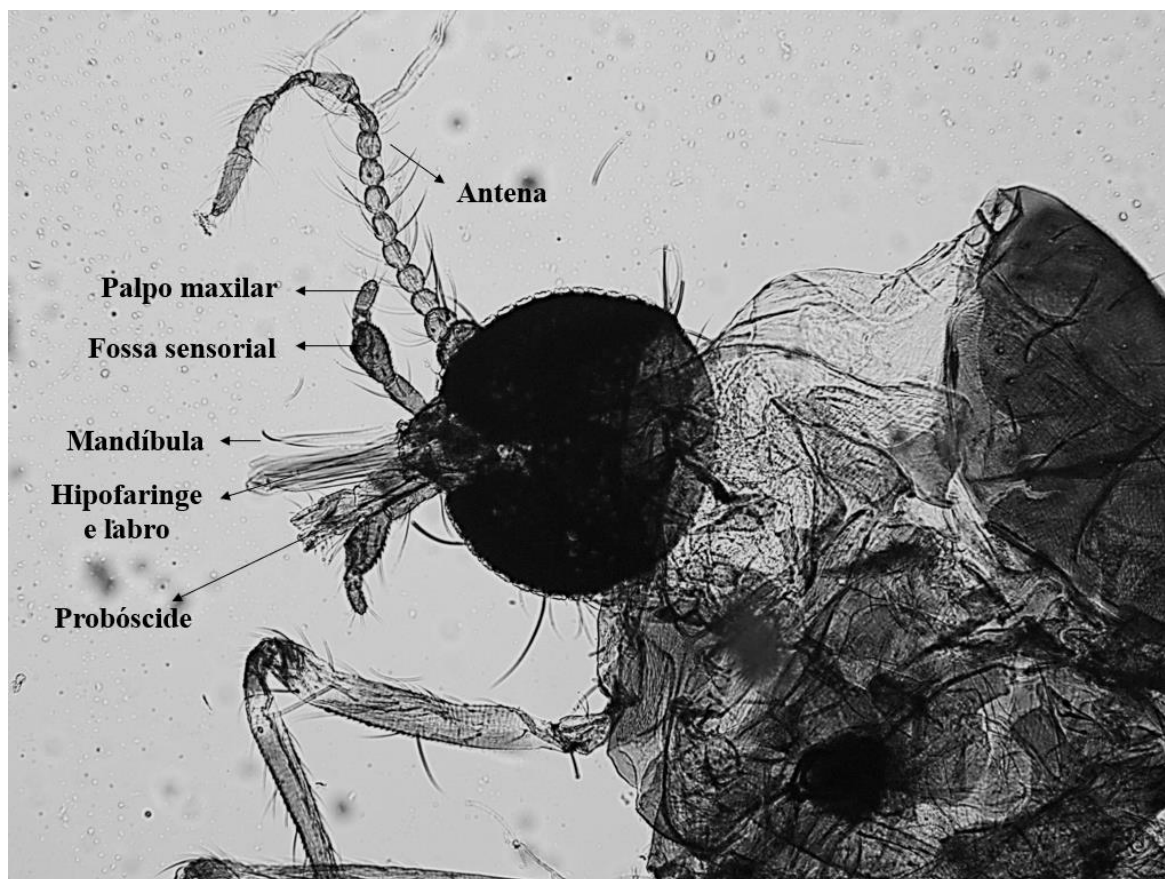


Figura 3. Peças bucais de fêmea de *Culicoides* spp. desenvolvidas e adaptadas para picar e sugar sangue.

Os *Culicoides* spp. têm ampla distribuição geográfica. A maior parte das espécies desse gênero possui hábito crepuscular, sendo encontrada ao entardecer e ao amanhecer, com picos de atividade por volta de 17:00h e 18:00h e nas primeiras horas do dia entre 04:00h e 05:00h. No entanto, algumas poucas espécies possuem hábito noturno e outras diurno (MELLOR et al., 2000).

As fêmeas têm atividade de voo relacionada à busca por refeição de sangue e local para oviposição e o seu voo pode atingir de dois a três quilômetros do local de procriação. Os machos após emergirem, formam enxames durante o voo, que ocorrem próximo aos locais dos quais emergiram, assim, as fêmeas ao passar pelo enxame são

abordadas pelo macho para cópula, a qual pode acontecer durante o voo ou os insetos podem pousar no substrato (BORKENT, 2005).

São insetos holometábolos e o seu ciclo de vida inclui as fases de ovo, quatro estádios larvais, pupa e adulto. Os ovos têm aproximadamente 400 µm de comprimento e 50 µm de largura com formato elipsoide curvado, lembrando o formato de banana. Quando postos, possuem coloração branca e com o passar do tempo tornam-se escuros (FARIAS et al., 2015). As fêmeas ovipõem onde existe umidade e matéria orgânica para o desenvolvimento posterior da larva (CASTELLÓN e VERAS, 2015). Geralmente os ovos são postos em lotes que se aderem ao substrato como troncos de bananeiras, cascas de cacauzeiros, esterco animal, bancos de areia, entre outros, ou podem ficar sob a coluna d'água em ambientes aquáticos, sendo sensíveis ao ressecamento. O número de ovos em cada postura é variável dependendo da espécie, pode estar entre 10 e 600 e eclodem entre duas e dez horas. Do ovo eclode uma larva de aspecto vermiforme (variando o tamanho, de acordo com a espécie) que se movimenta de forma serpentina ondulatória o que permite o seu deslocamento (CASTELLÓN e VERAS, 2015). Os imaturos podem ser encontrados em ambientes com água ou semiaquático, ou apenas com umidade, como rios, pântanos, praias, esterco animal, solos alagados, cascas de árvores, frutas em decomposição e outros ambientes. A duração do estágio larval depende fundamentalmente da temperatura, variando de dias até meses. O estágio de pupa, é de curta duração, durando cerca de algumas horas, quando finalmente emerge o adulto, de coloração clara e em aproximadamente 24 horas, em virtude do processo de esclerotização, se torna mais escuro, adquirindo a sua coloração final. Podem ser encontrados em ambientes florestais úmidos, poças, praias, montanhas, mangues, abrigos de animais domésticos em zonas rurais, periurbanas e urbanas como chiqueiros, galinheiros ou currais (DIAZ e RONDEROS, 2015; FARIAS et al., 2015).

A duração do período de vida do adulto é variável, de acordo com a espécie, no entanto, têm-se registrado uma variação de uma semana a meses (CASTELLÓN e VERAS, 2015).

Os *Culicoides* spp. são vetores de diversos patógenos incluindo filárias e protozoários. Já foi relatado a transmissão de *Mansonella* spp., *Onchocerca* spp., *Haemoproteus* sp., *Leucocytozoon* sp. e *Hepaticystis* sp. (MELLOR et al., 2000). Algumas espécies de *Culicoides* também são responsáveis pela transmissão de vários arbovírus, como Vírus Akabane, Vírus Oropouche, Vírus da Peste Equina Africana, vírus Encefalite Equina do Leste, Vírus da Língua Azul e Vírus Schmollenberg

(PINHEIRO et al., 1976; GEORGE, STANDFAST e CYBINSKI, 1978; MELLOR et al., 1990; BORKENT, 2005; BORKENT e SPINELLI, 2007; HOFFMAN et al., 2012). Alguns estudos também demonstraram a capacidade de *Leishmania* spp. e *Trypanosoma* spp. se desenvolverem nesses dípteros (SEBLOVA et al., 2012; SLAMA et al., 2014; SVOBODOVÁ et al., 2017; REBÊLO et al., 2016; BERNOTIENĚ et al., 2020).

2.4 Gênero *Forcipomyia* spp. Meigen, 1818

Filo: Arthropoda

Classe: Insecta

Ordem: Diptera

Subordem: Culicomorpha

Família: Ceratopogonidae

Gênero: *Forcipomyia*

O gênero *Forcipomyia* pertence a subfamília Forcipomyiinae. Para este gênero são descritos 35 subgêneros e aproximadamente 1.180 espécies (SANTARÉM e FELIPPE-BAUER, 2021).

Esses dípteros são caracterizados por possuírem asas com células radiais bem desenvolvidas, antena com 13 flagelômeros, pequena sutura anepisternal e cercos curtos (CARVALHO, 2016).

Algumas espécies são suspeitas de transmitir filárias causadoras da oncocercose bovina, bubalina e equina (BORKENT, 2015). Já foi descrito que espécies desse gênero são transmissoras da filária *Icosiella neglecta* a anfíbios. Além disso, Dougall et al. (2011) relataram que, através de disseções intestinais manuais, puderam confirmar a presença de promastigotas de *Leishmania* spp. em alguns espécimes de *Forcipomyia* spp. na Austrália. O sequenciamento genético realizado a partir dos parasitos cultivados confirmou que as infecções eram idênticas à de *Leishmania* spp. encontrada em um hospedeiro canguru vermelho (*Macropus rufus*), sugerindo fortemente que *Forcipomyia* spp. é um potencial vetor biológico de *Leishmania* spp. (Dougall et al. 2011).

De acordo com Santarém e Felipe-Bauer (2021), esse gênero já foi descrito em países como Argentina, Alemanha, Colômbia, Costa Rica, Cuba, Dominica, Grã Bretanha, Indonésia, Suécia, Nigéria, Finlândia, Espanha, República Eslováquia, Egito, Gana, República do Congo, Japão, China, Paraguai, USA, Rússia, Trinidad e Tobago,

México, Peru, Guiana, Guiana Francesa, Panamá, Belize, Bélgica e no Brasil em estados como Amazonas, Pará, Rio de Janeiro, Santa Catarina, São Paulo, Paraná, Bahia, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Goiás, Pernambuco e Maranhão.

2.5 Gênero *Monohelea* spp. Kieffer, 1917

Filo: Arthropoda

Classe: Insecta

Ordem: Diptera

Subordem: Culicomorpha

Família: Ceratopogonidae

Gênero: *Monohelea*

Os insetos do gênero *Monohelea* pertencem a subfamília Ceratopogoninae e tribo Ceratopogonini. O gênero predador *Monohelea* inclui 90 espécies (BORKENT, 2015).

A literatura que aborda a biologia desse gênero é escassa, entretanto, de acordo com Santarém e Felipe-Bauer (2021), esse gênero foi descrito apenas nos estados como Amazonas, Pará, Roraima, Rio de Janeiro, Santa Catarina, São Paulo e Distrito Federal.

Dada a importância desses dípteros na medicina humana e animal, devido a ação espoliadora direta ou devido ao grande incômodo que causam, além do potencial risco de veiculação de patógenos, reforça-se a importância da realização de mais estudos sobre esses insetos que complementem a pouca literatura encontrada.

3 ARTIGO

ARTIGO PUBLICADO:

<https://doi.org/10.1007/s42690-021-00708-z>

**NEW RECORDS OF THE OCCURRENCE OF BITING MIDGES (DIPTERA:
CERATOPOGONIDAE) SPECIES IN RURAL AREA OF SANTA MARIA, RIO
GRANDE DO SUL, IN THE SOUTH OF BRAZIL**

Julia Somavilla Lignon, Emanuelle de Souza Farias, Felipe Arley Costa Pessoa,
Eduarda Maria Trentin Santi, Lucas Alexandre Farias de Souza, Gilneia da Rosa, Diego
Moscarelli Pinto, Luciana Pötter, Silvia Gonzalez Monteiro

INTERNATIONAL JOURNAL OF TROPICAL INSECT SCIENCE, 2022

1 **New records of the occurrence of biting midges (Diptera: Ceratopogonidae) species**
2 **in rural area of Santa Maria, Rio Grande do Sul, in the South of Brazil**

3 Julia Somavilla Lignon^{1*}, Emanuelle de Souza Farias², Felipe Arley Costa Pessoa²,
4 Eduarda Maria Trentin Santi³, Lucas Alexandre Farias de Souza³, Gilneia da Rosa³,
5 Diego Moscarelli Pinto⁴, Luciana Pötter⁵, Silvia Gonzalez Monteiro³

6 ¹Graduate program in Veterinary Medicine, Veterinary Parasitology Laboratory,
7 Department of Microbiology and Parasitology, Federal University of Santa Maria, Santa
8 Maria, Rio Grande do Sul, Brazil – *Corresponding author: julialignon@gmail.com –
9 <https://orcid.org/0000-0003-1207-8190>

10 ²Laboratory of Amazonian Infectious Diseases Ecology, Leônidas and Maria Deane
11 Institute, FIOCRUZ AMAZÔNIA, Manaus, Amazonas, Brazil

12 ³Veterinary Parasitology Laboratory, Federal University of Santa Maria, Santa Maria,
13 Rio Grande do Sul, Brazil

14 ⁴PhD in Sciences, Federal University of Pelotas, Pelotas, Rio Grande do Sul, Brazil

15 ⁵Pastures and Supplements Laboratory, Federal University of Santa Maria, Santa Maria,
16 Rio Grande do Sul, Brazil

17

18 **Abstract**

19 Ceratopogonidae (biting midges) species are of medical and veterinary importance and
20 play a role as disease vectors caused by viruses, protozoa, and filarial nematodes.
21 Besides their vectorial importance, they are harmful due to painful bites that cause
22 discomfort in humans and animals. Identifying possible disease vectors is of significant
23 epidemiological importance, therefore, the aim of this study was to carry out a survey of

24 the species of Ceratopogonids that occur in Santa Maria, Rio Grande do Sul, to verify
25 the frequency of occurrence of adults of Ceratopogonidae within one year of capture.
26 Insects were collected weekly (three night a week) using a Captor® suction light trap,
27 from March 2020 to March 2021, between 6 p.m. and 6 a.m. Collections of biting
28 midges were separated from other insects, divided into genera and morphologically
29 identified at the species level. A total of 16,054 specimens (71.55% female to 28.44%
30 male) of Ceratopogonidae, were collected and identified, comprising thirteen species.
31 Data presented show that several species of biting midges, including seven new records,
32 have variable frequency and occur year-round at the study site, with the highest number
33 in the warm season. The dominant species were *Culicoides insignis* and *Culicoides*
34 *venezuelensis*.

35 **Keywords:** Arthropoda, biting midges, insects, vectors

36

37 **Declarations**

38 **Funding**

39 This study was made possible with the financial support of a scholarship granted by the
40 National Council for Scientific and Technological Development (CNPq).

41

42 **Conflicts of interest/Competing interests**

43 The authors have no conflicts of interest to declare that are relevant to the content of this
44 article.

45

46 **Availability of data and material**

47 Data and materials are available at the Laboratory of Veterinary Parasitology at the
48 Federal University of Santa Maria.

49

50 **Code availability**

51 Not applicable.

52

53 **Authors' contributions**

54 JSL carried out the study and wrote the article. EMTS, LAFS and GR helped to separate
55 the insects according to morphology. ESF identified the Ceratopogonids specimens. LP
56 performed the statistical analysis of the manuscript data. FACP, DMP, SGM revised
57 and corrected the manuscript. All authors read and approved the final manuscript.

58

59 **Acknowledgements**

60 We are thankful for the contribution and availability of Ph.D Felipe and M.Sc.
61 Emanuelle from the Oswaldo Cruz Foundation team in Manaus, Amazonia, for helping
62 us to identify Ceratopogonidae species and to Ph.D Luciana Pötter for her help in
63 carrying out the statistical analysis of the manuscript data. Thanks to Juliana Schaefer
64 for designing the map of the study site. Thanks to Coordination for the Improvement of
65 Higher Education Personnel (CAPES) and to the Brazilian National Council for
66 Scientific and Technological Development (CNPq) for granting the scholarship that
67 enabled the study to be carried out.

68

69

70

71

72

73

74

75 **Introduction**

76 Ceratopogonidae are small dipteran insects known by different names in several
77 countries. In Brazil, these hematophagous insects are called “maruins”, “mosquitos
78 pólvora” or “mosquitos do manguê” (Forattini et al. 1958). Many Ceratopogonidae
79 species, particularly *Culicoides* Latreille, 1809, are of medical and veterinary
80 importance and are biological vectors of diseases caused by viruses, protozoa, and
81 filarial nematodes (Borkent 2005; Borkent and Spinelli 2007). These diseases include
82 mansonellosis, onchocerciasis, equine encephalitis, Oropouche fever, bluetongue
83 disease, and other parasitosis to humans and animals (Mellor et al. 2000). Recent
84 studies have also demonstrated the competence of Ceratopogonids to become infect and
85 develop *Leishmania* spp. and *Trypanosoma* spp. (Seblova et al. 2012; Slama et al. 2014;
86 Rebêlo et al. 2016; Svobodová et al. 2017; Bernotienė et al. 2020). Beyond their
87 vectorial importance, biting midges cause harm due to their painful bites and can cause
88 reactions such as allergic dermatitis, eczema, peeling that may lead to secondary
89 infections requiring treatment, ultimately resulting in scars on human and animal skin,
90 mostly in equines and sheep (Felippe-Bauer and Sternheim 2008).

91 Currently, in the study of the family Ceratopogonidae, the genus *Culicoides* is
92 the most represented in number of species and health importance, with 1,309 species
93 described globally. In Brazil, while 520 Ceratopogonids have been described only 151
94 are *Culicoides* species. In the state of Rio Grande do Sul, only nine species are known
95 to occur (Santarém and Felippe-Bauer 2021).

96 Regarding the economic and health relevance of this genus, few studies have
97 been carried out with in this taxon in this region. Identifying possible disease vectors is
98 important for epidemiological purposes. The objective of this study was to survey the
99 species of Ceratopogonids occurring in Santa Maria, Rio Grande do Sul, to verify the

100 frequency of occurrence of adults of Ceratopogonidae within one year of capture.

101

102 **Methodology**

103 Biting midges' adults were collected weekly (three night a week) with a
104 Captor® (Fig. 1) suction light trap for 12 months, from March 2020 to March 2021. The
105 trap has a 32W (voltage: 220V / 60Hz) ultraviolet lamp that attracts insects and
106 propellers that rotate at a reduced speed, sucking the insects into an internal drawer
107 within the trap. The trap was installed around ~1.5m above ground level in the
108 peridomicile of rural propriety (29° 39' 37.2" S; 53° 42' 32.2" W) located in Santa
109 Maria, Rio Grande do Sul, Brazil (29° 41' 03" S; 53° 48' 25" W) (Fig. 2). In the
110 peridomicile, both production (e.g., chicken, turkey) (Fig. 3 – A) and companion
111 animals (e.g., dogs) (Fig. 3 – B) were present as well as routinely humans. Vegetation
112 type of the area is native vegetation (Atlantic Forest and countryside vegetation) with a
113 predominance of the Atlantic Forest (Fig. 3 – C), with several streams and lakes in the
114 area (Fig. 3 – B and D).

115 Collections were performed between 6 pm and 6 am, the captured insects were
116 placed inside a plastic container containing 70% ethanol and transported to the
117 Veterinary Parasitology Laboratory of the Federal University of Santa Maria for
118 identification. The Ceratopogonidae was separated from other insects under a
119 stereoscopic microscope based on morphology. Specimens were separated into
120 morphospecies according to wing pattern and some specimens were mounted on
121 microscope slides according to Wirth & Marston (1968) with adaptations, where they
122 were identified taxonomically at the species level with the help of the identification
123 keys of Wirth and Blanton (1959), Wirth et al. (1988), Spinelli et al. (2005) and
124 Felipe-Bauer et al. (2008). The remaining samples were stored and preserved in a -

125 20°C freezer in 2mL Eppendorf microtubes. Some samples were also stored in 70%
126 ethanol in the Veterinary Parasitology Laboratory of the Federal University of Santa
127 Maria. Many insects had morphological variations in common. Unidentified specimens
128 were therefore grouped into morphotypes.

129 Monthly meteorological data (average temperature, humidity and precipitation)
130 for the municipality of Santa Maria / RS, from March 2020 to March 2021 were
131 obtained from the National Institute of Meteorology (INMET).

132 Capture, collection, and transportation of Diptera samples were authorized by
133 the System of Authorization and Biodiversity Information of Ministry of Environment
134 under registration number 76188 bases on Normative Instruction number 03/2014.

135

136 **Statistical analysis**

137 The Chi-square statistical method ($p < 0.0001$) was used to compare the absolute
138 frequencies of all Ceratopogonidae species captured in this study. This comparison was
139 performed according to the total number of captures and the analyzes were performed
140 using the SAS statistical program, version 9.2 (SAS, 2001). The species that differ
141 statistically ($p < 0.0001$) are shown in Table 1.

142

143



144

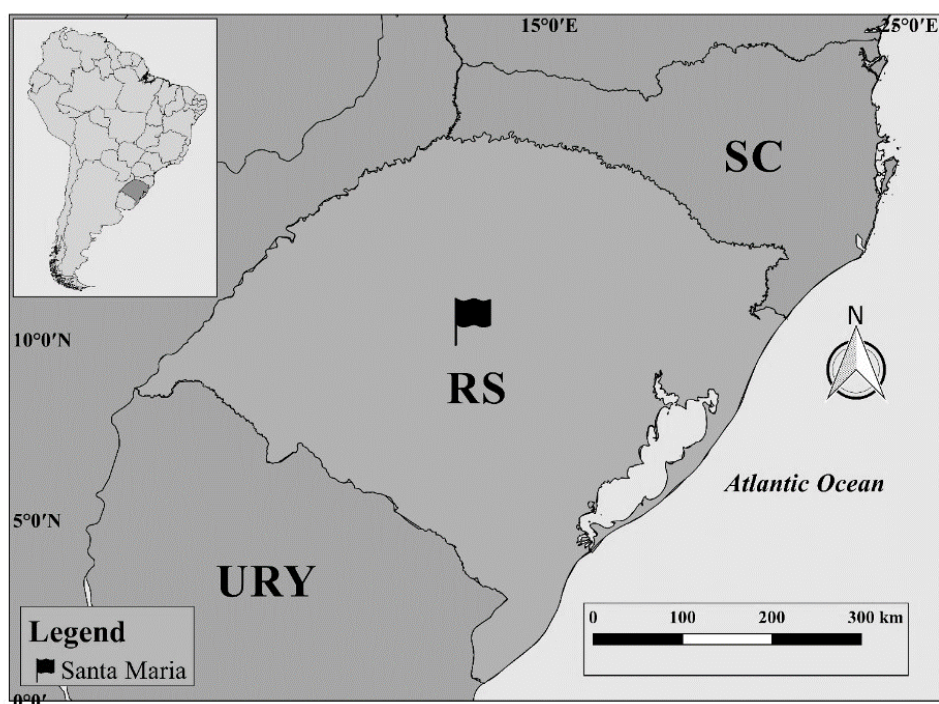
145

Fig. 1 Captor® suction light trap. (Image source: Ascend Global -

146

<https://ascendglobal.com/eng/products/insect-light-traps/1>)

147



148

149

Fig. 2 Map showing the position of Rio Grande do Sul in Brazil and South America with Santa Maria marking.

150

151



152

153 **Fig. 3** Landscape of the peridomicile area on the rural property where insect survey was
 154 conducted. A- Presence of production animals in the peridomicile property; B-
 155 Presence of domestic animals and lake in the peridomicile property; C- Native
 156 vegetation of the property area with a predominance of the Atlantic Forest; D-. Stream
 157 located on property.

158

159 Results

160 During the sampling period, 16,054 biting midges were collected, composed of
 161 71.55% females and 28.44% males (Tab. 1). Thirteen species were collected (Fig. 4):
 162 *Culicoides impusilloides* Spinelli and Wirth, 1984, *C. insignis* Lutz, 1913, *C. leopoldoi*
 163 Ortíz, 1951, *C. limai* Barretto, 1944, *C. pseudodiabolicus* Fox, 1946, *C. pusillus* Lutz,
 164 1913, *C. venezuelensis* Ortíz & Mirsa, 1950, *Forcipomyia* sp.1 Meigen, 1818,
 165 *Forcipomyia* sp.2 Meigen, 1818, *Forcipomyia* sp.3 Meigen, 1818, *Monohelea* spp.
 166 Kieffer, 1917, Morphotype 1 and Morphotype 2. The non-identified samples were
 167 grouped into morphotypes.

168 *Culicoides insignis* and *C. venezuelensis* were the most abundant species,
169 corresponding to 50.50% and 46% of the collected samples, respectively, followed by
170 *C. leopoldoi* (2.62%), *C. limai* (0.28%), and *C. impusilloides* (0.19%). The remaining
171 species corresponded to less than 1% (Tab. 1). Except for *C. insignis* and *C.*
172 *venezuelensis*, all collected and identified species in Santa Maria/RS are considered new
173 records for Rio Grande do Sul, Brazil.

174 The collected data indicate that the Ceratopogonids occurred throughout the
175 year in Santa Maria / RS (Tab. 2 and Fig. 5) with greater abundance of adults during the
176 period of higher temperature (Fig. 5). The behavior of these insects when evaluated
177 individually with respect to sex, that is, in the analysis of females (Fig. 6) and males
178 (Fig. 7) separately, the behavior was like the results when compared together, being
179 mainly influenced by temperature.

180

Tab. 1 Ceratopogonidae species captured by Captor® suction light trap, in a peridomicile area in Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brazil.

Species	Female number	Male number	Absolute frequency	Relative frequency (%)
<i>Culicoides impusilloides</i> +	27	4	31 ^b	0.19
<i>Culicoides insignis</i>	5,764	2,344	8,108 ^a	50.50
<i>Culicoides leopoldoi</i> +	289	132	421 ^b	2.62
<i>Culicoides limai</i> +	34	12	46 ^b	0.28
<i>Culicoides pseudodiabolicus</i> +	3	0	3 ^b	0.01
<i>Culicoides pusillus</i> +	13	9	22 ^b	0.13
<i>Culicoides venezuelensis</i>	5,329	2,056	7,385 ^a	46
<i>Forcipomyia</i> sp. 1*+	3	0	3 ^b	0.01
<i>Forcipomyia</i> sp. 2*+	17	8	25 ^b	0.15
<i>Forcipomyia</i> sp. 3*+	2	1	3 ^b	0.01
<i>Monohelea</i> spp.*+	2	0	2 ^b	0.01
Morphotype 1**	2	0	2 ^b	0.01
Morphotype 2**	2	1	3 ^b	0.01
Total	11,487 (71.55%)	4,567 (28.44%)	16,054 (100%)	100

181

Values followed of different letter in the same column differ ($p < 0.0001$).

182

*Non-identified species.

183

**Non-identified genus.

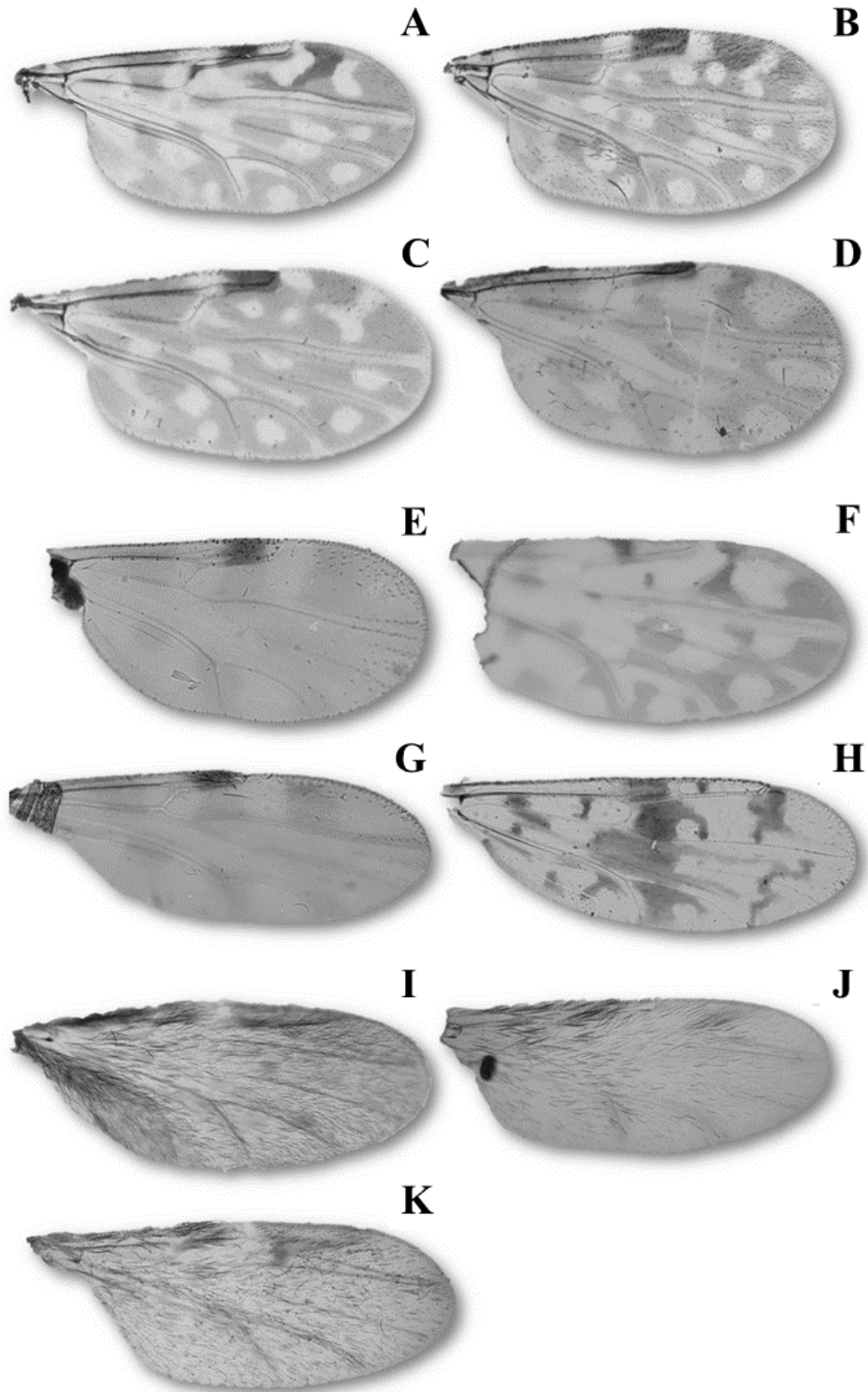
184

+ New records for Rio Grande do Sul.

185

186 **Tab. 2** Monthly abundance of Ceratopogonidae species captured by the Captor® suction light trap in a peridomicile area in Santa Maria, Rio
 187 Grande do Sul, Brazil.

Species	Mar/20	Apr/20	May/20	Jun/20	Jul/20	Aug/20	Sep/20	Oct/20	Nov/20	Dec/20	Jan/21	Feb/21	Mar/21
<i>Culicoides impusilloides</i>	7	4	1	0	0	0	0	0	2	4	6	3	4
<i>Culicoides insignis</i>	1134	435	213	110	56	97	343	452	789	982	1276	1137	1089
<i>Culicoides leopoldoi</i>	62	12	3	0	0	0	18	14	24	53	106	78	51
<i>Culicoides limai</i>	10	2	0	0	0	0	2	0	1	3	7	9	12
<i>Culicoides pseudodiabolicus</i>	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	1	0
<i>Culicoides pusillus</i>	6	3	0	0	0	0	0	0	0	0	5	5	3
<i>Culicoides venezuelensis</i>	996	367	118	72	42	88	284	297	658	959	1298	1175	1031
<i>Forcipomyia</i> sp.1	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Forcipomyia</i> sp.2	18	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Forcipomyia</i> sp.3	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Monohelea</i> spp.	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Morphotype 1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Morphotype 2	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Total	2243	833	335	182	98	185	649	763	1474	2001	2693	2408	2190



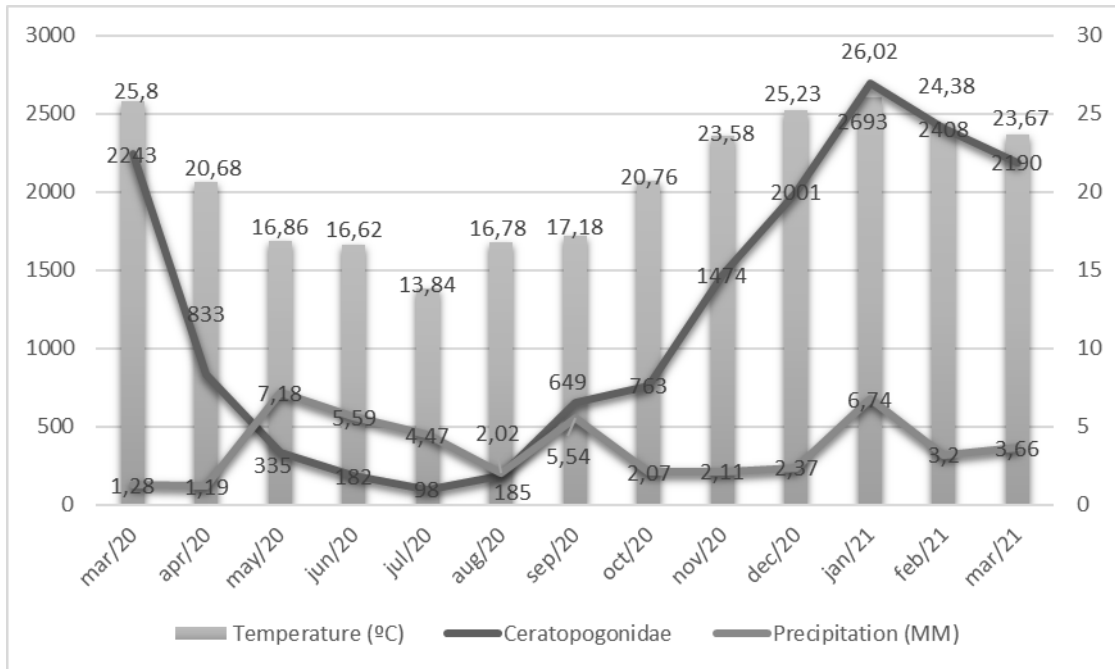
190

191

192

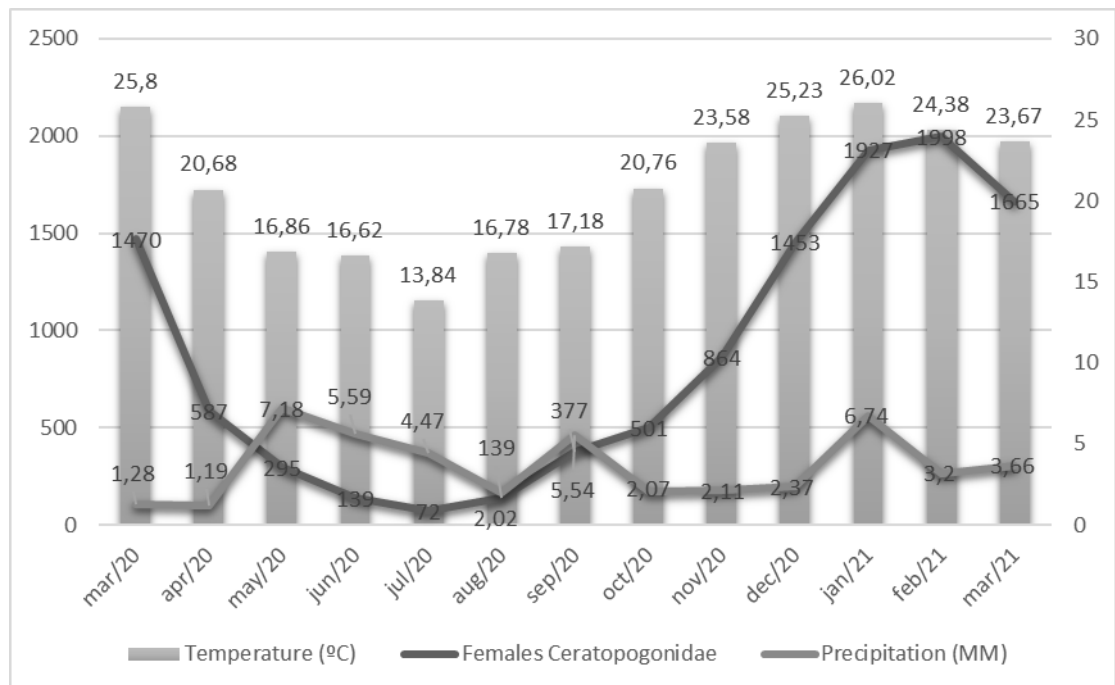
193

Fig. 4 Ceratopogonidae species identified. A- *C. insignis*; B- *C. venezuelensis*; C- *C. leopoldoi*; D- *C. limai*; E- *C. pusillus*; F- *C. pseudodiabolicus*; G- *C. impusilloides*; H- *Monohalea* spp.; I- *Forcypomyia* sp.1; J- *Forcypomyia* sp.2; K- *Forcypomyia* sp.3.



194
195
196
197
198
199

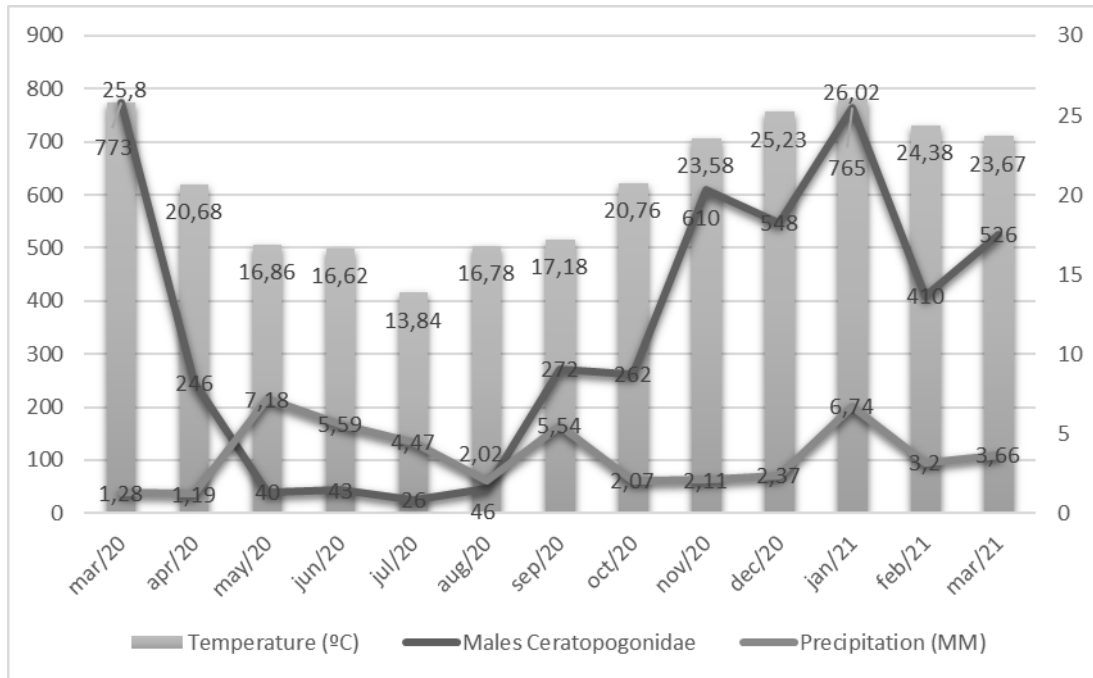
Fig. 5 Monthly distribution of Ceratopogonids captured in a peridomicile rural area in Santa Maria, RS, Brazil and monthly meteorological data (average temperature and precipitation) for the municipality, from March 2020 to March 2021, according to the National Institute of Meteorology (INMET).



200
201
202
203
204

Fig. 6 Monthly distribution of females Ceratopogonids captured in a peridomicile rural area in Santa Maria, RS, Brazil and monthly meteorological data (average temperature and precipitation) for the municipality, from March 2020 to March 2021, according to the National Institute of Meteorology (INMET).

205



206

207

Fig. 7 Monthly distribution of males Ceratopogonids captured in a peridomicile rural area in Santa Maria, RS, Brazil and monthly meteorological data (average temperature and precipitation) for the municipality, from March 2020 to March 2021, according to the National Institute of Meteorology (INMET).

208

209

210

211

212

213

214

215

216

217

218

219

220

221

222

223 **NEW RECORDS**224 *Culicoides impusilloides* Spinelli and Wirth, 1984225 **Known geographic distribution:** Brazil – Santa Catarina226 **Examined material:** Brazil – Santa Maria, central Rio Grande do Sul. **The first record in**
227 **the state of Rio Grande do Sul.**

228

229 *Culicoides leopoldoi* Ortíz, 1951230 **Known geographic distribution:** Venezuela; Brazil – Amapá, Amazonas, Pará, Rondônia,
231 Roraima, Bahia, Ceará, Maranhão, Pernambuco, Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro,
232 and São Paulo.233 **Examined material:** Brazil – Santa Maria, central Rio Grande do Sul. **The first record in**
234 **the state of Rio Grande do Sul.**

235

236 *Culicoides limai* Barretto, 1944237 **Known geographic distribution:** Brazil – Amapá, Amazonas, Pará, Rondônia, Roraima,
238 Maranhão, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo, and Santa Catarina.239 **Examined material:** Brazil – Santa Maria, central Rio Grande do Sul. **The first record in**
240 **the state of Rio Grande do Sul.**

241

242 *Culicoides pseudodiabolicus* Fox, 1946243 **Known geographic distribution:** Trinidad and Tobago; Brazil – Acre, Amapá, Amazonas,
244 Pará, Rondônia, Roraima, and Maranhão.245 **Examined material:** Brazil – Santa Maria, central Rio Grande do Sul. **The first record in**
246 **the state of Rio Grande do Sul.**

247

248 *Culicoides pusillus* Lutz, 1913

249 **Known geographic distribution:** Brazil – Rio de Janeiro, Acre, Amapá, Amazonas, Pará,
250 Rondônia, Bahia, Ceará, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo, and Santa Catarina.

251 **Examined material:** Brazil – Santa Maria, central Rio Grande do Sul. **The first record in**
252 **the state of Rio Grande do Sul.**

253

254 *Forcipomyia* spp. Meigen, 1818

255 **Known geographic distribution:** Argentina, Germany, Colombia, Costa Rica, Cuba,
256 Dominica, Great Britain, Indonesia, Sweden, Nigeria, Finland, Spain, Slovak Republic,
257 Egypt, Ghana, Congo Republic, Japan, China, Paraguay, United States of America, Russia,
258 Trinidad and Tobago, Mexico, Peru, Guyana, French Guyana, Panama, Belize, Belgium,
259 Brazil – Amazonas, Pará, Rio de Janeiro, Santa Catarina, São Paulo, Paraná, Bahia, Mato
260 Grosso do Sul, Minas Gerais, Goiás, Pernambuco, and Maranhão.

261 **Examined material:** Brazil – Santa Maria, central Rio Grande do Sul. **The first record in**
262 **the state of Rio Grande do Sul.**

263

264 *Monohelea* spp. Kieffer, 1917

265 **Known geographic distribution:** Brazil – Amazonas, Pará, Rio de Janeiro, Santa Catarina,
266 São Paulo, and Federal District (Brasília).

267 **Examined material:** Brazil – Santa Maria, central Rio Grande do Sul. **The first record in**
268 **the state of Rio Grande do Sul.**

269

270

271

272

273 Discussion

274 Until now, according to Santarém and Felipe-Bauer (2021), only nine
275 Ceratopogonidae species have been recorded in the state of Rio Grande do Sul. Species such
276 as *Culicoides multilineata*, *C. balseiroi*, *C. caridei*, *Bezzia nobilis*, *Palpomyia pampana*, *P.*
277 *umbella* and *Lophomyidium fuscus*, recorded previously in the state, were not recorded in
278 the present study and this may be related to the ecological differences between the different
279 species, since the capture method was the same - suction light trap -, despite different brands.
280 In the present study, we describe seven new records of the occurrence of biting mosquitoes in
281 Rio Grande do Sul (*C. impusilloides*, *C. leopoldoi*, *C. limai*, *C. pseudodiabolicus*, *C. pusillus*,
282 *Forcipomyia* spp. and *Monohelea* spp.), although already have been previously registered in
283 other Brazilian states (Santarém and Felipe-Bauer 2021). The study was carried out in a
284 single rural site and with only one trap, and even so, a great diversity of species was observed,
285 showing the scarcity of information available for this region, suggesting that the real diversity
286 of Ceratopogonidae in the state may be even higher.

287 According to Wirth (1974), favorable environmental and bioecological conditions for
288 the reproduction biting midges exist in rural areas that promote proliferation and conservation
289 of many *Culicoides* species, which prefer natural vegetation or water bodies (rivers, lakes,
290 streams) that create wetlands and swamps (Silva et al. 2010). There is a spread of biting
291 midges from these humid environments to the nearest peridomicile environments where
292 domestic animals occur and serve as a food source for these insects (Kettle 1962).
293 Consequently, and due to their hematophagous habit, female biting midges can be considered
294 a plague for both humans and domestic vertebrates (Kettle 1977) and explain the
295 predominancy of females captured.

296 *Culicoides insignis* was the dominant species in this study like studies by Carvalho
297 and Silva (2014) and Carvalho et al. (2017), indicating that *C. insignis*' mammalphilic feeding

298 behavior, according Garvin and Greine (2003), to be one of the factors that contribute to the
299 high number of individuals collected near animals. This species has already been reported in
300 the south of Rio Grande do Sul as causing seasonal allergic dermatitis in sheep (Corrêa et al.
301 2007). *Culicoides insignis* breed in both fresh and brackish water (Forattini, Rabello and
302 Pattoli, 1957; Forattini, Rabello and Pattoli, 1958), explaining the high numbers collected due
303 to the presence of streams and lakes in targeted regions.

304 *Culicoides pusillus* is recorded for the first time in the state of Rio Grande do Sul. This
305 insect is widely distributed in several Brazilian regions and adult individuals were found
306 biting humans (Aitken et al. 1975). *Culicoides pusillus* and *C. insignis* are considered possible
307 vectors of virus, which causes the Bluetongue disease in domestic and wild ruminants in
308 South America (Mellor, 2004). This disease must be reported in sanitary units and in 2018 it
309 infected sheep in Santa Maria (Martins 2018). The abundance of these species can contribute
310 to Bluetongue disease outbreaks, and it is essential to gain more knowledge about them. This
311 information can be used in epidemiological surveillance strategies, for example, to study the
312 spread of Bluetongue disease in Rio Grande do Sul.

313 *Culicoides venezuelensis* was the second most abundant insect collected. According to
314 Ronderos et al. (2003), its presence is highly associated with tropical and subtropical forests,
315 which explains its high population density in the region. In Rio Grande do Sul, it has already
316 been described from the salt marshes of the Lagoa dos Patos estuary (Carrasco et al. 2014).

317 Despite being new records to the state of Rio Grande do Sul, the epidemiological
318 importance of *C. limai*, *C. impusilloides*, *C. leopoldoi*, *C. pseudodiabolicus*,
319 and *Monohalea* spp. in the transmission of diseases to humans and other animals are
320 unknown. Nevertheless, these biting midges are harmful due to painful bites, followed by a
321 burning sensation, which causes discomfort in both humans and animals (Felippe-Bauer and
322 Sternheim, 2008) and may lead to secondary infection that may need treatment.

323 In Australia, manual gut dissections confirm the presence of promastigotes of
324 *Leishmania* spp. in some biting midges of *Focipomyia* spp. The parasites were cultured from
325 infected biting midges and sequential genes analysis confirmed that the infections were
326 identical to the original *Leishmania* spp. found in a red kangaroo host (*Macropus rufus*)
327 strongly suggesting that *Forcipomyia* spp. is a potential biological vector of *Leishmania* spp.
328 (Dougall et al. 2011).

329 Due to the low numbers collected in this study these species (*C. limai*, *C.*
330 *impusilloides*, *C. leopoldoi*, *C. pseudodiabolicus*, *Monohelea* spp. and *Focipomyia* spp.) can
331 be considered rare when compared to the ones mentioned previously, and consequently little
332 anthrophilic. However, it is not unusual in entomological studies that some species appear
333 with a low frequency, a consequence of the many factors (capture method, environment
334 characteristics, presence of hosts, etc.). Thus, the abundance of these species may be higher in
335 areas away from peridomiciles (Costa et al. 2013).

336 Climate variables including temperature, precipitation, humidity, wind speed, etc.,
337 may influence several aspects of the life cycle of arthropod vectors (e.g., *Culicoides* species)
338 such as survival, abundance, pathogen and vector interactions, behavior, and vector
339 distribution (Tabachnick 2010). As previously described by Carrasco et al. (2014), the
340 Ceratoponogonids occurred throughout the year in this study. Higher monthly average
341 temperatures favor the occurrence of insects, even in winter, where averages remain above
342 10°C. Another reason is that average rainfall remain was low throughout the year, but
343 especially during the summer months (December to March), where there were two population
344 peaks. The smaller amount of rain allows for the dispersion of populations, however, it was
345 sufficient for the development of immature forms in adults (Forattini, Rabello and Pattoli,
346 1958).

347 In addition, this is the first job study using the Captor® suction light trap. This trap
348 can be considered an efficient alternative, easy to handle and transport, and cheaper when
349 compared to the CDC light trap (Sudia and Chamberlain, 1962), normally used for sampling
350 hematophagous insects. Though both traps attract the insect to the light source the CDC trap
351 differ in that it and which also attracts them by a small light source (conventional or
352 incandescent light or LED light) and sucks them into the interior by a small fan, which runs
353 operates on a current of six- or twelve-volt batteries.

354

355 **Conclusion**

356 The data presented show that several species of biting midges, including the seven
357 new records, have variable frequency and occur year-round at the study site, with the highest
358 number in the warm season. The most frequent species collected are *C. insignis* and *C.*
359 *venezuelensis*.

360

361 **References**

- 362 Aitken THG, Wirth WW, William RW. et al. (1975) A review of the bloodsucking midges of
363 Trinidad and Tobago, West Indies (Diptera: Ceratopogonidae). *J. Entomol.*, 44:101–
364 144.
- 365 Bernotienė R, Iezhova TA, Bukauskaitė D. et al. (2020) Development of *Trypanosoma*
366 *everetti* in *Culicoides* biting midges. *Acta Trop.*, 210:105555.
367 <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2020.105555>
- 368 Borkent A. (2005) The Biting Midges, Ceratopogonidae (Diptera). Chapter 10., pp. 113–
369 126. In: W. C. Marquardt (Ed.), *Biology of Disease Vectors* (Second Edition).
370 Elsevier Academic Press, Burlington, Massachusetts.

- 371 Borkent A, Spinelli GR. (2007) Neotropical Ceratopogonidae (Diptera: Insecta). Pp:1–198.
372 In: J. Adis, J. R. Arias, G. Rueda-Delgado, K. M. Wantzen (Eds.). Aquatic
373 Biodiversity in Latin America (ABLA), 4.
- 374 Carrasco D, Felipe-Bauer ML, Dumont LF. et al. (2014) Abundance of *Culicoides* (Diptera,
375 Ceratopogonidae) species in salt marshes of the Patos Lagoon estuary, Rio Grande do
376 Sul, Brazil: influence of climatic variables. Pan-American Journal of Aquatic Sciences
377 9:8-20.
- 378 Carvalho LPC, Junior AMP, Farias ES. et al. (2017) A study of *Culicoides* in Rondônia, in
379 the Brazilian Amazon: species composition, relative abundance and potential vectors.
380 Med. Vet. Entomol., 31:117–122. <https://doi.org/10.1111/mve.12208>
- 381 Carvalho LPC, Silva FS. (2014) Seasonal abundance of livestock-associated *Culicoides*
382 species in northeastern Brazil. Med. Vet. Entomol., 28:228-231.
383 <https://doi.org/10.1111/mve.12043>
- 384 Corrêa TG, Ferreira JM, Riet-Correa G. et al. (2007) Seasonal allergic dermatitis in sheep in
385 southern Brazil caused by *Culicoides insignis* (Diptera: Ceratopogonidae). Vet.
386 Parasitol. 145:181-185.
- 387 Costa JC, Lorosa ES, Moraes JLP. et al. (2013) Espécies de *Culicoides* (Diptera;
388 Ceratopogonidae) e hospedeiros potenciais em área de ecoturismo do Parque Nacional
389 dos Lençóis Maranhenses, Brasil. Rev. Pan-Amaz. Saúde, 4:11-18.
390 <http://dx.doi.org/10.5123/S2176-62232013000300002>
- 391 Dougall AM, Alexander B, Holt DC. et al. (2011) Evidence incriminating midges (Diptera:
392 Ceratopogonidae) as potential vectors of *Leishmania* in Australia. Int. J. Parasitol.,
393 41:571-579. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2010.12.008>
- 394 Felipe-Bauer ML, Cáceres GC, Silva CS. et al. (2008) Description of *Culicoides*
395 *pseudoheliconiae* sp. n. from Peruvian Amazon and revalidation of *Culicoides*

- 396 *contubernalis* Ortiz & Leon (Diptera: Ceratopogonidae). Mem. Inst. Oswaldo Cruz,
397 103:259–262. <https://doi.org/10.1590/S0074-02762008005000010>
- 398 Felipe-Bauer ML, Sternheim US. (2008) *Culicoides paraensis* (Diptera: Ceratopogonidae)
399 Infestations in Cities of the Itapocú River Valley, Southern Brazil. Entomol. News,
400 119:185. [https://doi.org/10.3157/0013-872X\(2008\)119](https://doi.org/10.3157/0013-872X(2008)119)
- 401 Forattini OP, Rebello EX, Pattoli D. (1957) A brief note on breeding places of *Culicoides* in
402 São Vicente, Brazil. Mosq. News, 17: 312-313.
- 403 Forattini OP, Rebello EX, Pattoli D. (1958) *Culicoides* da região Neotropical (Diptera:
404 Ceratopogonidae). Observações sobre a biologia em condições naturais. Arqvs. Fac.
405 Hig. Saúde Públ. Univ. S. Paulo, 12:1-52.
- 406 Garvin MC, Greiner EC. (2003) Ecology of *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae) in
407 Southcentral Florida and experimental *Culicoides* vectors of the avian Hematozoan
408 *Haemoproteus danilewskyi* Kruse. J. Wildl. Dis., 39:170-178.
409 <https://doi.org/10.7589/0090-3558-39.1.170>
- 410 Kettle DS. (1962) The bionomics and control of *Culicoides* and *Leptoconops* (Diptera,
411 Ceratopogonidae = Heleidae). Ann Rev Entomol., 7:401-18.
- 412 Kettle DS. (1977) Biology and bionomics of bloodsucking Ceratopogonids. Ann Rev
413 Entomol., 22:33-51. <https://doi.org/10.1146/annurev.en.22.010177.000341>
- 414 Martins M. (2018) Doença da Língua Azul impede exportação de animais de Santa Maria e
415 região para a Turquia. *GZH Campo e Lavoura*, Porto Alegre.
416 [https://gauchazh.clicrbs.com.br/economia/campoelavoura/noticia/2018/01/doenca-da-](https://gauchazh.clicrbs.com.br/economia/campoelavoura/noticia/2018/01/doenca-da-lingua-azul-impede-exportacao-de-animais-de-santa-maria-e-regiao-para-a-turquia-cjc944gxt00b301keirk8hq0e.html)
417 [lingua-azul-impede-exportacao-de-animais-de-santa-maria-e-regiao-para-a-turquia-](https://gauchazh.clicrbs.com.br/economia/campoelavoura/noticia/2018/01/doenca-da-lingua-azul-impede-exportacao-de-animais-de-santa-maria-e-regiao-para-a-turquia-cjc944gxt00b301keirk8hq0e.html)
418 [cjc944gxt00b301keirk8hq0e.html](https://gauchazh.clicrbs.com.br/economia/campoelavoura/noticia/2018/01/doenca-da-lingua-azul-impede-exportacao-de-animais-de-santa-maria-e-regiao-para-a-turquia-cjc944gxt00b301keirk8hq0e.html) Accessed 22 January 2021
- 419 Mellor PS, Boorman J, Baylis M. (2000) *Culicoides* Biting Midges: their role as arbovirus
420 vectors. Ann Rev Entomol, 45:307-340. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.45.1.307>

- 421 Mellor PS. (2004) Infection of the vectors and bluetongue epidemiology in Europe.
422 *Epidemiology and Vectors*, 40:167-174.
- 423 Rebêlo JMM, Rodrigues BL, Bandeira MCA. et al. (2016) Detection of *Leishmania*
424 *amazonenses* and *Leishmania braziliensis* in *Culicoides* (Diptera, Ceratopogonidae) in
425 an endemic area of cutaneous leishmaniasis in the Brazilian Amazonia. *J. Vector Ecol*,
426 41:303–308. <https://doi.org/10.1111/jvec.12227>
- 427 Ronderos MM, Greco NM, Spinelli GR. (2003) Diversity of biting midges of the genus
428 *Culicoides* Latreille (Diptera: Ceratopogonidae) in the Area of the Yacyretá Dam Lake
429 between Argentina and Paraguay. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 98:19-24.
430 <https://doi.org/10.1590/S0074-02762003000100003>
- 431 Santarém MCA, Felipe-Bauer ML. (2021) Brazilian species of biting midges. Fiocruz.
432 [https://portal.fiocruz.br/sites/portal.fiocruz.br/files/documentos/brazilian_species_of_b](https://portal.fiocruz.br/sites/portal.fiocruz.br/files/documentos/brazilian_species_of_biting_midges_2021.pdf)
433 [iting_midges_2021.pdf](https://portal.fiocruz.br/sites/portal.fiocruz.br/files/documentos/brazilian_species_of_biting_midges_2021.pdf) Accessed 11 September 2021
- 434 SAS Institute. SAS/STAT 2001: user's guide: statistics version 9.2. Cary, 2001.
- 435 Seblova V, Sadlova J, Carpenter S. et al. (2012) Development of *Leishmania* Parasites in
436 *Culicoides nubeculosus* (Diptera: Ceratopogonidae) and Implications for Screening
437 Vector Competence. *J Med Entomol*, 49:967–970. <https://doi.org/10.1603/me12053>
- 438 Silva FDF, Okada Y, Felipe-Bauer ML. (2010) *Culicoides* Latreille (Diptera:
439 Ceratopogonidae) da vila de Alter do Chão, Santarém, Pará, Brasil. *Rev. Pan-*
440 *Amazônica Saúde*, 1:69-74. <http://dx.doi.org/10.5123/S2176-62232010000300010>.
- 441 Slama D, Haouas N, Remadi L. et al. (2014) First detection of *Leishmania infantum*
442 (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) in *Culicoides* spp. (Diptera: Ceratopogonidae).
443 *Parasit. vectors.*, 7:51. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-7-51>

- 444 Spinelli GR, Ronderos MM, Díaz F. et al. (2005) The bloodsucking biting midges of
445 Argentina (Diptera: Ceratopogonidae). Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 100: 137–150.
446 <https://doi.org/10.1590/S0074-02762005000200006>
- 447 Statistical Analysis System (2001) User's Guide Statistics, Version 9.2. SAS Institute, NC,
448 USA.
- 449 Sudia WA, Chamberlain RW. (1962) Battery-operated light trap: an improved model.
450 Mosquito News 22: 126-129.
- 451 Svobodová M, Dolnik OV, Cepicka I. et al. (2017) Biting midges (Ceratopogonidae) as
452 vectors of avian trypanosomes. Parasit. vectors., 10:224.
453 <https://doi.org/10.1186/s13071-017-2158-9>
- 454 Tabachnick WJ. (2010) Challenges in predicting climate and environmental effects on vector-
455 borne disease epistystems in a changing world. J. Exp. Bio., 213: 946-954.
456 <https://doi.org/10.1242/jeb.037564>
- 457 Wirth WW. (1974) The West Indian Sandflies of the Genus *Culicoides* (Diptera:
458 Ceratopogonidae). U.S. Department of Agriculture Agricultural Research Service,
459 Washington, DC.
- 460 Wirth WW, Blanton FS. (1959) Biting midges of the genus *Culicoides* from Panama (Diptera:
461 Heleidae). Proceedings of the United States National Museum 109:237–482.
- 462 Wirth WW, Dyce AL, Spinelli GR. (1988) An atlas on wing photographs, with a summary of
463 the numerical characters of the neotropical species of *Culicoides* (Diptera:
464 Ceratopogonidae). Cont. Am. Entomol. Inst. 25:1-72.
- 465 Wirth WW, Marston N. (1968) A method for mounting small insects on microscope slides in
466 Canada balsam. Ann. Entomol. Soc. Am. 61: 783-784.
- 467
468
469

4 CONCLUSÃO

Pode-se concluir, com os dados apresentados, que várias espécies de Ceratopogonidae, incluindo sete novos registros, ocorrem em uma propriedade rural de Santa Maria, RS. Os maruins têm frequência variável e ocorrem o ano todo no local de estudo, sendo o maior número na estação quente, independente do sexo. As espécies mais frequentemente coletadas foram *C. insignis* e *C. venezuelensis*.

O presente trabalho ressalta a escassez de pesquisas e informações referentes aos Ceratopogonidae no estado do Rio Grande do Sul, e apesar do estudo ter sido realizado em um único local e com apenas uma armadilha, obteve-se grande diversidade de espécies, sugerindo que a real diversidade no estado pode ser ainda maior.

Além disso, este é o primeiro estudo usando a armadilha de luz de sucção Captor®, a qual, pode ser considerada uma alternativa eficiente, de fácil manuseio e transporte e mais barata quando comparada à armadilha luminosa do tipo CDC, frequentemente usada em pesquisas entomológicas.

REFERÊNCIAS

- ARNORIM, D.S.; YEATES, D.K. Pesky gnats: ridding dipteran classification of the Nematocera. **Studia Dipterologica**, v.1, n.3, p. 3-9, 2006.
- BERNOTIENĖ, R.; IEZHOVA, T.A.; BUKAUSKAITĖ, D. et al. Development of *Trypanosoma everetti* in *Culicoides* biting midges. **Acta Tropica**, 105555, 2020.
- BLACKWELL, A. A morphological investigation of *Culicoides* spp. biting midges (Diptera: Ceratopogonidae) from the Caribbean. **Journal of Vector Ecology**, v.29, n.1, p. 51-61, 2004.
- BLANTON, F.S.; WIRTH, W.W. The sand flies (*Culicoides*) of Florida. **Arthropods of Florida and Neighboring Land Areas**, v.10, n.1, p.204, 1979.
- BORKENT, A. The Biting Midges, the Ceratopogonidae. In: Marquardt, W.C. (Eds). **Biology of Disease Vectors**. 2^a Ed. Elsevier Academic Press. Burlington, San Diego, London. p. 113-126, 2005.
- BORKENT, A. The Pupae of the Biting Midges of the World (Diptera: Ceratopogonidae), With a Generic Key and Analysis of the Phylogenetic Relationships Between Genera. **Zootaxa**, v.3879, n.1, p.1-327, 2014.
- BORKENT, A. **World Species of Biting Midges (Diptera: Ceratopogonidae)**. 2015. (<http://www.inhs.illinois.edu/files/9913/9144/3328/CeratopogonidaeCatalog.pdf>). Acesso em: 6 de novembro de 2021.
- BORKENT, A.; SPINELLI, G. R. **Neotropical Ceratopogonidae (Diptera: Insecta)**. Pp:1–198. Aquatic biodiversity in Latin America (ABLA). Vol. 4. 2007.
- BRITO, L.G.; OLIVEIRA, M.C.S.; GIGLIOTI, R. et al. **Manual de identificação, importância e manutenção de colônias estoque de dípteros de interesse veterinário em laboratório**. Porto Velho, RO: Embrapa Rondônia, 2008. 25p.
- CASTELLÓN, E.G.; VERAS, R.S. **Maruins (*Culicoides*: Ceratopogonidae) na Amazônia brasileira**. Manaus: Editora INPA, 2015. 144p.
- CARRASCO, D.; FELIPPE-BAUER, M.L.; DUMONT, L.F. et al. Abundance of *Culicoides* (Diptera, Ceratopogonidae) species in salt marshes of the Patos Lagoon estuary, Rio Grande do Sul, Brazil: influence of climatic variables. **Pan-American Journal of Aquatic Sciences** v.9, p.8-20, 2014.
- CARVALHO, L.P.C.; JUNIOR, A.M.P.; FARIAS, E.S. et al. A study of *Culicoides* in Rondônia, in the Brazilian Amazon: species composition, relative abundance and potential vectors. **Medical and Veterinary Entomology**, v.31, p.117–122, 2017.
- CARVALHO, C. J. B.; RAFAEL, J. A.; COURI, M. S. et al. Diptera Linnaeus, 1758. In: RAFAEL, J. A.; MELO, G. A. R.; CARVALHO, C. J. B. et al. **Insetos do Brasil: diversidade e taxonomia**. Ribeirão Preto: Holos Editora, 2012. p. 701-743.

CORRÊA, T.G.; FERREIRA, J.M.; RIET-CORREA, G. et al. Seasonal allergic dermatitis in sheep in southern Brazil caused by *Culicoides insignis* (Diptera: Ceratopogonidae). **Veterinary Parasitology**, v.145, p.181-185, 2007.

DIAZ, F.; RONDEROS, M.M. Estágios imaturos do gênero *Culicoides*. In: Castellón, E.G.; Veras, R.S. (Eds). **Maruins (Culicoides: Ceratopogonidae) na Amazônia brasileira**. Editora INPA, Manaus, Amazonas. p. 85-104. 2015.

DOUGALL, A.M.; ALEXANDER, B.; HOLT, D.C. et al. Evidence incriminating midges (Diptera: Ceratopogonidae) as potential vectors of *Leishmania* in Australia. **International Journal for Parasitology**, v.41, p.571-579, 2011.

DOWNES, J.A.; WIRTH, W.W. Ceratopogonidae. In: MCALPINE, J.F.; PETERSON, B.V.; SHEWELL, G.E.; et al. (Eds). **Manual of Nearctic Diptera**, Vol. 1. Research Branch Monograph n° 27. p. 393-421, 1981.

FARIAS, E.S.; JÚNIOR, A.M.P.; ALMEIDA, J.F. et al. Hematophagous biting midges (Diptera: Ceratopogonidae) from Tefé municipality, Amazonas state, Brazil. **Checklist**, v.11, n.4, p.1-5, 2015.

FELIPPE-BAUER, M.L. A importância do padrão das manchas das asas em *Culicoides* (Latreille, 1809) (Diptera: Ceratopogonidae): sua limitação. **Entomología y Vectores**, v.10, n.4, p.595-600, 2003.

FELIPPE-BAUER, M.L.; STERNHEIM, U.S. *Culicoides paraensis* (Diptera: Ceratopogonidae) Infestations in Cities of the Itapocú River Valley, Southern Brazil. **Entomological News**, v. 119, p. 185, 2008.

FERREIRA-KEPPLER, R.L.; RONDEROS, M.M.; DIAZ, F. et al. Ordem Diptera. Família Ceratopogonidae. In: HAMADA, N.; NESSIMIAN, J.L.; QUERINO, R.B. (Eds.). **Insetos Aquáticos na Amazônia brasileira: Taxonomia, Biologia e Ecologia**. 1ª ed. Manaus: Editora do INPA. p. 711-723, 2014.

FORATTINI, O.P.; REBELLO, E.X.; PATTOLI, D. *Culicoides* da região Neotropical (Diptera: Ceratopogonidae). I. Observações sobre a biologia em condições naturais. **Arquivos da Faculdade de Higiene e Saúde Pública**, v.12, n.11, p.1-52, 1958.

GEORGE, T.D.; STANDFAST, H.A.; CYBINSKI, D.H. Isolations of Akabane virus from sentinel cattle and *Culicoides brevitarsis*. **Australian Veterinary Journal**, v.54, n.12, p. 558-561, 1978.

HOFFMANN, B.; SCHEUCH, M.; HÖPER, D. et al. Novel orthobunyavirus in cattle, Europe, 2011. **Emerging Infectious Diseases**, v.18, n.3, p.469-472, 2012.

MELLOR, P.S. The Replication of Bluetongue Virus in *Culicoides* Vectors. In: ROY, P.; GORMAN, B.M. (Eds). **Bluetongue viruses. Current Topics in Microbiology and Immunology**, p. 143-161, 1990.

MELLOR, P.S.; BOORMAN, J.; BAYLIS, M. et al. *Culicoides* Biting Midges: Their Role as Arbovirus Vectors. **Annual Review of Entomology**, v.45, p.307-340, 2000.

MONTEIRO, S.G. **Parasitologia na Medicina Veterinária**. 2. ed. – Rio de Janeiro: Roca, 2017. 370 p.

MULLEN, G.R. Biting Midges (Ceratopogonidae). In: Mullen G.; Durden, L. (Eds). **Medical and Veterinary Entomology**. Academic Press, San Diego, Ca. p. 163-182, 2009.

PINHEIRO, F.P.; TRAVASSOS DA ROSA, A.P.A.; TRAVASSOS DA ROSA, J.F. et al. An Outbreak of Oropouche Virus Disease in the Vicinity of Santarem, Pará, Brazil. **Tropenmedizin und Parasitologie**, v.27, n.2, p.213-223, 1976.

REBÊLO, J.M.M.; RODRIGUES, B.L.; BANDEIRA, M.C.A. et al. Detection of *Leishmania amazonenses* and *Leishmania braziliensis* in *Culicoides* (Diptera, Ceratopogonidae) in an endemic area of cutaneous leishmaniasis in the Brazilian Amazonia. **Journal of Vector Ecology**, v.41, n.2, p.303–308, 2016.

RODRIGUES, W.C. Fatores que influenciam no desenvolvimento dos insetos. **Info Insetos**, v.1, n.4, p.01-04, 2004.

RONDEROS, M.M.; GRECO, N.M.; SPINELLI, G. R. Diversity of biting midges of the genus *Culicoides* Latreille (Diptera: Ceratopogonidae) in the area of the Yacyretá Dam Lake between- Argentina and Paraguay. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.98, n.1, p.19-24, 2003.

RONDEROS, M.M.; DIAZ, F. *Culicoides* Latreille - morfologia do adulto. In: Castellón, E.G.; Veras, R.S. (Eds). **Maruins (Culicoides: Ceratopogonidae) na Amazônia brasileira**. Editora INPA, Manaus, Amazonas. p. 75-84, 2015.

SANTARÉM, M.C.A.; FELIPPE-BAUER, M.L. 2021. **Brazilian species of biting midges. Fiocruz.**

<https://portal.fiocruz.br/sites/portal.fiocruz.br/files/documentos/brazilian_species_of_biting_midges_2021.pdf> Acessado em 11 September 2021

SEBLOVA, V.; SADLOVA, J.; CARPENTER, S. et al. Development of *Leishmania* Parasites in *Culicoides nubeculosus* (Diptera: Ceratopogonidae) and Implications for Screening Vector Competence. **Journal of Medical Entomology**, v.49, p.967–970, 2012.

SLAMA, D.; HAOUAS, N.; REMADI, L. et al. First detection of *Leishmania infantum* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) in *Culicoides* spp. (Diptera: Ceratopogonidae). **Parasites & Vectors**, v.7, p.51, 2014.

SVOBODOVÁ, M.; DOLNIK, O.V.; CEPICKA, I. et al. Biting midges (Ceratopogonidae) as vectors of avian trypanosomes. **Parasites & Vectors**, v.10, p.224, 2017.

THOMPSON, F.C. The Diptera site. The biosystematic database of world Diptera. Nomenclator status statistics. Version 1 0.5. 2008. <<https://www.gbif.org/pt/species/search?q=diptera>> Acessado em 01 de novembro de 2021

YEATES, D.K.; WIEGMANN, B.M.; COURTNEY, G.W. et al. Phylogeny and systematics of Diptera: Two decades of progress and prospects. **Zootaxa** v.1, p.565-590, 2007.

WIRTH, W.W.; BLANTON, F.S. Biting midges of the genus *Culicoides* from Panama (Diptera: Heleidae). **Proceedings of the United States National Museum**, v.109, p.237-482, 1959.